

Atividade anti-*Staphylococcus aureus* e anti-*Klebsiella pneumoniae* do cinamaldeído e suas interações com ATP sintase e FtsZ através do docking molecular

Emerson Luan Andrade de Oliveira¹, Gislaine da Silva Rodrigues², Abrahão Alves de Oliveira Filho³, Cássio Ilan Soares Medeiros^{1,4*}

¹ Departamento de Biomedicina, Centro Universitário UniFIP, Patos, PB, Brasil.

² Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR, Brasil.

³ Unidade Acadêmica de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Campina Grande, Polo: Patos, PB, Brasil.

⁴ Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, Brasil.

*Autor correspondente: medeiroscassio4@gmail.com, Orcid: 0000-0002-6413-8303

Recebido: 21 de julho de 2022

Revisado: 23 de fevereiro de 2023

Aceto: 26 de fevereiro de 2023

RESUMO

Introdução: as infecções bacterianas tornaram-se um grande desafio na área da saúde devido ao surgimento e disseminação de bactérias multirresistentes, o que levou ao aumento do interesse no desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos. **Objetivo:** investigar o potencial antibacteriano do cinamaldeído contra *Staphylococcus aureus* e *Klebsiella pneumoniae* bem como, estudar as interações desse fitoquímico com a ATP sintase e a FtsZ através do docking molecular. **Metodologia:** nos ensaios *in vitro* foram aplicados a técnica da microdiluição em placas de 96 poços para obter a concentração inibitória e bactericida mínima (CIM e CBM). Para os ensaios *in silico*, o procedimento adotado foi o da ancoragem molecular com a proteína rígida (ATP sintase e a FtsZ) e o ligante flexível. **Resultados:** verificou-se uma forte atividade antibacteriana contra *S. aureus* e *K. pneumoniae* do cinamaldeído com CIM = 64 e 32 µg/mL respectivamente e CBM = 128 e 64 µg/mL respectivamente, com melhor espectro de ação contra bactérias Gram negativas. Além disso, o cinamaldeído foi capaz de ligar-se a ATP sintase e a FtsZ com energias de $\Delta E = -5.10$ kcal/mol e $\Delta E = -5.20$ kcal/mol de modo respectivo. **Conclusão:** o cinamaldeído apre-

senta efeito bactericida contra *S. aureus* e *K. pneumoniae* e de modo preditivo esse efeito ocorre por causa das interações desse fitoquímico com a ATP sintase e a FtsZ.

Palavras-chave: Cinamaldeído, ATP sintase, atividade antibacteriana, FtsZ.

SUMMARY

Anti-*Staphylococcus aureus* and anti-*Klebsiella pneumoniae* activity of cinnamaldehyde and its interactions with ATP synthase and FtsZ through molecular docking

Introduction: bacterial infections have become a major challenge in healthcare due to the emergence and spread of multidrug-resistant bacteria, which has led to increased interest in the development of new antimicrobial agents. **Objective:** to investigate the antibacterial potential of cinnamaldehyde against *Staphylococcus aureus* and *Klebsiella pneumoniae* as well as to study the interactions of this phytochemical with ATP synthase and FtsZ through molecular docking. **Methodology:** in the *in vitro* assays, the microdilution technique was applied in 96-well plates to obtain the minimum inhibitory and bactericidal concentration (MIC and MBC). For the *in silico* assays, the procedure adopted was that of molecular anchoring with the rigid protein (ATP synthase and FtsZ) and the flexible ligand. **Results:** it was found a strong antibacterial activity against *S. aureus* and *K. pneumoniae* of cinnamaldehyde with MIC = 64 and 32 µg/mL respectively and CBM = 128 and 64 µg/mL respectively, with better spectrum of action against Gram negative bacteria. Furthermore, cinnamaldehyde was able to bind ATP synthase and FtsZ with energies of $\Delta E = -5.10$ kcal/mol and $\Delta E = -5.20$ kcal/mol respectively. **Conclusion:** Cinnamaldehyde has a bactericidal effect against *S. aureus* and *K. pneumoniae* and this effect is predictive because of the interactions of this phytochemical with ATP synthase and FtsZ.

Keywords: Cinnamaldehyde, ATP synthase, antibacterial activity, FtsZ.

RESUMEN

Actividad anti-*Staphylococcus aureus* y anti-*Klebsiella pneumoniae* del cinamaldehído y sus interacciones con la ATP sintasa y FtsZ a través del acoplamiento molecular

Introducción: las infecciones bacterianas se han convertido en un gran desafío en el cuidado de la salud debido a la aparición y propagación de bacterias multirresistentes, lo que ha llevado a un mayor interés en el desarrollo de nuevos agentes antimicrobianos. **Objetivo:** investigar el potencial antibacteriano del cinamaldehído contra *Staphylococcus aureus* y *Klebsiella pneumoniae*, así como estudiar las interacciones de este fitoquímico con la ATP sintasa y FtsZ mediante acoplamiento molecular.

Metodología: en los ensayos *in vitro* se aplicó la técnica de microdilución en placas de 96 pozos para obtener la concentración mínima inhibitoria y bactericida (CIM y CBM). Para los ensayos *in silico*, el procedimiento adoptado fue el de anclaje molecular con la proteína rígida (ATP sintasa y FtsZ) y el ligando flexible. **Resultados:** se encontró una fuerte actividad antibacteriana contra *S. aureus* y *K. pneumoniae* del cinamaldehído con MIC = 64 y 32 µg/mL respectivamente y CBM = 128 y 64 µg/mL respectivamente, con mejor espectro de acción contra bacterias Gram negativas. Además, el cinamaldehído pudo unir ATP sintasa y FtsZ con energías de $\Delta E = -5,10$ kcal/mol y $\Delta E = -5,20$ kcal/mol respectivamente. **Conclusión:** el cinamaldehído tiene efecto bactericida contra *S. aureus* y *K. pneumoniae* y este efecto es predictivo debido a las interacciones de este fitoquímico con la ATP sintasa y FtsZ.

Palabras clave: Cinamaldehído, ATP sintasa, actividad antibacteriana, FtsZ.

INTRODUÇÃO

As infecções bacterianas são uma grande ameaça à saúde humana, pois podem resultar em morbidade e mortalidade. Nesse contexto, dois patógenos de importância médica *Staphylococcus aureus* e *Klebsiella pneumoniae* apresentam grande capacidade de causar graves infecções. Os *S. aureus* frequentemente estão envolvidos com endocardite, septicemia, síndrome do choque tóxico e recentemente pneumonia secundária em pacientes com COVID-19 [1, 2]. *K. pneumoniae* está relacionada com infecções do trato urinário, pneumonia e bacteraemia. Além disso, este microrganismo também tem sido considerado como patógeno oportunista, visto que a maioria das infecções ocorre em indivíduos hospitalizados ou imunocomprometidos [3].

A resistência bacteriana aos antibióticos e a consequente falha na terapêutica antimicrobiana é um problema de saúde pública presente em todos os países. Um informativo da OMS (2014), evidencia que em 2050 o setor de saúde enfrentará crises devido a infecções causadas por bactérias multirresistentes [4], e o uso indiscriminado desses fármacos em diversos setores da sociedade, colaboram para a pressão seletiva desses microrganismos multirresistentes [5]. Dessa forma, o aumento da resistência bacteriana aos antibióticos impulsiona a busca por novas alternativas terapêuticas, reposicionamento de fármacos e a pesquisa de compostos com atividade antimicrobiana significativa [6]. Dentre estes, o monoterpeno cinamaldeído é o principal fitoquímico presente nas cascas das árvores do gênero *Cinnamomum* e é responsável pelo aroma e sabor da canela [7]. Além disso, diversos estudos evidenciaram sua atividade antimicrobiana, antidiabética, anti-inflamatória, nematicida e anticancerígena [8].

O cinamaldeído como antibacteriano parece afetar a integridade da membrana celular bacteriana por interferir com os níveis de ATP, além de inibir a divisão celular. Nesses aspectos, sugerem que esse fitoquímico interage com a ATP sintase bacteriana e a FtsZ um homólogo procarionte da proteína tubulina, importante para regular a divisão celular [9, 10].

Portanto, o objetivo desse trabalho foi avaliar a atividade antibacteriana do cinamaldeído frente a cepas bacterianas de *S. aureus* e *K. pneumoniae*, bem como investigar o mecanismo de ação preditivo através de interações moleculares com a ATP sintase e a FtsZ por meio do docking molecular.

MATERIAIS E MÉTODOS

Substâncias

O cinamaldeído ((E)-3-phenylprop-2-enal) (pureza > 95%), foi adquirido comercialmente da Quinari®, Ponta Grossa, PR, Brasil. Para os ensaios de atividade antibacteriana, o volume de 12,5 µL (0,25%) do cinamaldeído foi solubilizado em 150 µL (3%) de dimetilsulfóxido (DMSO) e adicionados de 100 µL (2%) de tween 80. Em seguida, foi completado com água destilada esterilizada (q.s.p. 5 mL) para obtenção de uma emulsão na concentração inicial de 1024 µg/mL e diluído em série a uma razão de dois até 2 µg/mL [11, 12].

Cepas e inóculos bacterianos

Os testes *in vitro* foram realizados com cepas bacterianas: *S. aureus* 101, 103 e 105, *K. pneumoniae* 101, 103, 104 e 105 (isolados clínicos), *S. aureus* ATCC 25925, ATCC 29213 e *K. pneumoniae* ATCC 13883 (cepas padrão). Todas as amostras pertencem ao acervo do Laboratório de Pesquisa em Microbiologia (LPM) do Centro Universitário

(UniFIP). Todas as cepas foram mantidas em ágar nutritivo (AN) à 4 °C. Culturas de 24 h incubadas à 37 °C foram usadas para realizar os ensaios. Posteriormente foram preparadas suspensões bacterianas a partir dessas culturas recentes em que aproximadamente 4-5 colônias foram transferidas (com alça estéril) para tubos de ensaio contendo 5,0 mL de solução salina estéril (NaCl à 0,85%). As suspensões resultantes foram agitadas durante 15 segundos com o auxílio de um aparelho vórtice (Fanem Ltda., Guarulhos, SP, Brasil). A turbidez do inóculo final foi normalizada usando uma suspensão de sulfato de bário (tubo 0,5 da escala de McFarland). A concentração final obtida foi de aproximadamente $1,5 \times 10^8$ unidades formadoras de colônias por mililitro (UFC/mL [13, 14]).

Concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM)

A determinação da CIM foi realizada pela técnica de microdiluição em caldo Brain Heart Infusion (BHI) duplamente concentrado em placas de 96 poços com fundo em "U" para obtenção de diferentes concentrações do cinamaldeído (1024-4 µg/mL). Paralelamente, controles de esterilidade, viabilidade celular e interferência dos veículos utilizados na preparação da emulsão do cinamaldeído foram realizados. A CIM é definida como a concentração mais baixa capaz de causar a inibição completa do crescimento bacteriano após 24 h à 37 °C. A atividade antimicrobiana do cinamaldeído foi interpretada conforme os seguintes critérios, para produtos naturais como extratos de plantas ou moléculas isoladas: (< 100 µg/mL) forte atividade; (> 100 à 500 µg/mL) moderada atividade; (> 500 à 1000 µg/mL) fraca atividade e (> 1000 µg/mL) produto inativo [15].

A CBM foi determinada após a leitura da CIM, retirando-se alíquotas de 10 µL do sobrenadante dos poços onde não houve crescimento visível (concentrações suprainibitórias) (CIM, CIM × 2 e CIM × 4) e inoculando-as em novas placas de 96 poços contendo apenas BHI. Todos os controles foram então preparados e os ensaios foram realizados em triplicata e os resultados expressos por sua média geométrica. A CBM é definida como a menor concentração de um agente químico capaz de causar a morte microbiana após 24 h à 37°C [13, 16].

Docking molecular

A estrutura química do cinamaldeído foi obtida do banco de dados de ligantes Zinc (<http://zinc.docking.org/substances/home/>) e teve sua geometria otimizada usando o software Avogadro (v. 1.2.0/Avogadro/Pittsburgh/Pennsylvania USA), por meio do método da mecânica molecular e o campo de força MMFF94 para moléculas orgânicas. As proteínas F₁F_O ATP sintase e FtsZ foram obtidas do Protein Data Bank (PDB) (<https://www.rcsb.org/>), juntamente com seus ligantes ATP, ADP e GTP cocristalizados, apresentando os respectivos códigos: 6OQW (3,10 Å) e 5MN5 (2,80 Å), no qual para a ATP sintase foi utilizado a subunidade B para a docagem molecular.

O docking molecular foi realizado usando o software gratuito AutoDock vina (Vina, The Scripps Institute). As etapas de preparação da proteína incluíram a remoção de heteroátomos (água e íons), adição de hidrogênios polares e atribuição de cargas. Os sítios ativos foram delineados em torno do ligante cocristal usando Grid Boxes de tamanhos apropriados. O processo de validação do docking foi baseado no redocking, que consiste em refletir a posição e orientação do ligante encontrado na estrutura cristalográfica. Assim, o valor do Root Mean Square Deviation (RMSD) deve ser $\leq 2,0$ Å. Portanto, o procedimento adotado foi o da ancoragem molecular com a proteína rígida (sem alterações nas posições dos átomos) e o ligante flexível [17, 18].

A visualização e preparação da estrutura cristalográfica das proteínas e do ligante para o redocking e o docking foram realizados no software PyMOL™ 2.0 (Schrödinger LLC), e Discovery Studio (DS) Visualizer (v.4.1) (Accelrys Software Inc., EUA).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

CIM e CBM

Os isolados clínicos utilizados no presente estudo apresentaram uma forte susceptibilidade ao cinamaldeído, com CIM's abaixo de 100 µg/mL de acordo com Morales *et al.* (2008) [15]. Os três isolados clínicos de *S. aureus* apresentaram uma CIM de 64 µg/mL e CBM de 128 µg/mL. Resultados iguais são observados nas cepas padrões ATCC (25925/29213) testadas. Dessa forma, o efeito da substância foi classificado como bactericida segundo a razão CBM/CIM ≤ 4 [19, 20] (tabela 1).

Tabela 1. Efeito bactericida do cinamaldeído contra cepas de *S. aureus*.

Cepas	Cinamaldeído			
	CIM	CBM	CBM/CIM	Efeito
<i>S. aureus 101</i>	64	128	2	Bactericida
<i>S. aureus 103</i>	64	128	2	Bactericida
<i>S. aureus 105</i>	64	128	2	Bactericida
<i>S. aureus ATCC 25925</i>	64	128	2	Bactericida
<i>S. aureus ATCC 29213</i>	64	128	2	Bactericida

CIM e CBM: µg/mL

O estudo de Fero *et al.* (2016) [21] avaliou o potencial inibitório do cinamaldeído em isolados clínicos de *S. aureus*. Para o ensaio, foram utilizados quatro isolados clínicos e duas cepas ATCC (25923/6538), seguindo o protocolo da CLSI 2015 para a determinação da CIM. Pode-se observar que para os quatro isolados clínicos e a cepa ATCC

6538 a CIM foi de 250 µg/mL e para a cepa ATCC 625923 foi 500 µg/mL. Além disso, a CBM para as cepas ATCC's foram de 1000 µg/mL. Também, foi evidenciado que concentrações subinibitórias de cinamaldeído diminuiu a sobrevivência dos *S. aureus* no soro humano e a inibição completa da adesão dos microrganismos ao látex. Estes achados podem tornar possível o uso futuro desta substância na produção de materiais hospitalares, como cateteres, a fim de prevenir a adesão de *S. aureus* a estes aparelhos.

Wang *et al.* (2021) [22] avaliaram a atividade antimicrobiana do cinamaldeído sobre dois isolados clínicos de *S. aureus* multirresistentes e na cepa ATCC 33591, seguindo o protocolo da CLSI 2017. Estes autores encontraram uma CIM de 250 µg/mL para os dois isolados clínicos, bem como para a cepa ATCC. Este estudo avaliou também possíveis interações farmacológicas, a fim de obter um sinergismo e uma reversão da resistência microbiana. Dentre os fármacos padrões testados, à amicacina foi o fármaco que apresentou o melhor resultado de sinergismo, tornando os isolados resistentes suscetíveis ao fármaco quando administrado em associação com o cinamaldeído, demonstrando assim sua atividade antibacteriana também em isolados multirresistentes.

Ainda neste estudo, o perfil bactericida do cinamaldeído também foi observado em isolados de *K. pneumoniae*. Dentre os quatro isolados clínicos testados, três obtiveram CIM de 32 µg/mL, e um isolado obteve CIM de 64 µg/mL. A cepa padrão ATCC 13883 também obteve uma CIM de 32 µg/mL, o que classifica o cinamaldeído com forte atividade antibacteriana frente as cepas de *K. pneumoniae*, conforme os critérios de Morales *et al.* (2008) [15]. Todos os isolados e a cepa padrão tiveram uma CBM de 64 µg/mL, demonstrando também seu efeito bactericida (CBM/CIM ≤ 4) [19, 20] (tabela 2).

Tabela 2. Efeito bactericida do cinamaldeído contra cepas de *K. pneumoniae*.

Cepas	Cinamaldeído			
	CIM	CBM	CBM/CIM	Efeito
<i>K. pneumoniae</i> 101	64	64	1	Bactericida
<i>K. pneumoniae</i> 103	32	64	2	Bactericida
<i>K. pneumoniae</i> 104	32	64	2	Bactericida
<i>K. pneumoniae</i> 105	32	64	2	Bactericida
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 13883	32	64	2	Bactericida

CIM e CBM: µg/mL

Hossan *et al.* (2018) [23], analisaram o efeito antibacteriano do cinamaldeído frente a vários microrganismos, dentre eles um isolado clínico de *K. pneumonia*, onde a CIM

desse composto foi de 46,8 µg/mL e a CBM abaixo de 100 µg/mL. Assemelhando-se com os resultados obtidos nesse estudo.

Dessa forma, estes resultados demonstram que o cinamaldeído apresenta potencial antibacteriano contra bactérias Gram positivas e negativas sobre *S. aureus* e *K. pneumoniae*, com maior efeito sobre as cepas Gram negativas. Dessa forma, os diferentes resultados obtidos nesse estudo em comparação aos já publicados na literatura especializada, sugerem as variações intrínsecas de suscetibilidade dos microrganismos. Isso pode ocorrer devido a aquisição ou perda de genes de resistência por exemplo, por meio de mutações ou transferência horizontal desses genes. Além disso, o efeito bactericida do cinamaldeído em bactérias Gram positivas, como *Staphylococcus epidermidis* e *Streptococcus pyogenes* e em Gram negativas, como *Escherichia coli*; *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii*, já foram também descritos na literatura científica, bem como efeitos fungicidas em algumas espécies fúngicas, evidenciando assim seu potencial antimicrobiano, sugerindo ser uma substância promissora para ser explorada na medicina [24-26].

Docking molecular

O docking molecular é uma ferramenta computacional interessante e bastante útil para realizar previsões e simulações em potenciais alvos moleculares e moléculas candidatas a fármacos, ajudando na tomada de decisões, modelagem molecular e estudo do sítio de interação de um ligante para com seu receptor através de funções de pontuação [27].

Os encaixes moleculares foram realizados com a ATP sintase bacteriana, uma enzima vital capaz de sustentar todos os processos metabólicos desses microrganismos. Além disso, a proteína FtsZ parece ser um importante candidato a alvo molecular de interesse farmacológico para terapia antimicrobiana, pois essa molécula é um homólogo procariótico da proteína tubulina eucariótica essencial para o processo de divisão celular [28, 29].

Inicialmente foi realizado o redocking como técnica de validação para o docking subsequente, no qual o cálculo do RMSD é particularmente importante e representativo do *pocket* que será feito o encaixe do cinamaldeído. Dessa forma, observando-se a (tabela 3) e as (figuras 1 e 2) é possível identificar que os RMSDs foram de 1,10 Å para a ATP sintase e 0,51 Å para a FtsZ, em que ambos os valores são ≤ 2,0 Å e a sobreposição dos ligantes cocristalizados com o redocking [17, 18].

Ao analisar o docking molecular, foi observado o acoplamento do cinamaldeído na subunidade B da ATP sintase com liberação de $\Delta E = -5,10$ kcal/mol e fazendo uma ligação hidrofóbica Pi-Alkyl com a ARG-365 e uma ligação de hidrogênio com o aminoácido TYR-150, além de várias outras ligações de van der Waals (figura 3 A e B). Portanto, as energias de ligação são relativamente próximas e o cinamaldeído mesmo

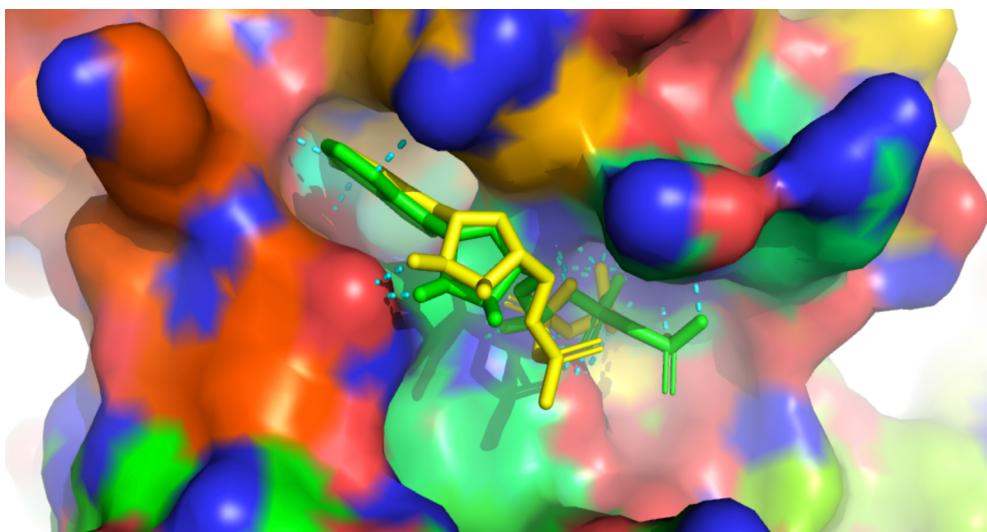


Figura 1. Melhor conformação de redocking e sobreposição de ligantes de ATP na subunidade B da F₁F₀ ATP sintase. Verde: cocrystal PDB. Amarelo: conformação do ligante após reencaixe. Pontilhado ciano: interações de ligação de hidrogênio.

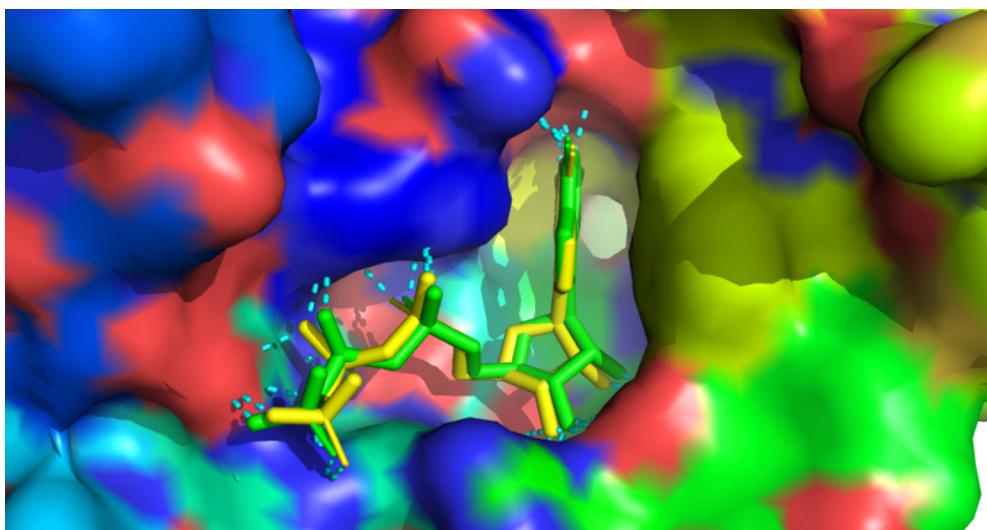


Figura 2. Melhor conformação de redocking e sobreposição de ligantes GTP na proteína FtsZ. Verde: cocrystal PDB. Amarelo: conformação do ligante após reencaixe. Pontilhado ciano: interações de ligação de hidrogênio.

Tabela 3. Energias de ligação dos redockings e dockings com o cinamaldeído.

Enzimas	Classificação	Energias de ligação (kcal/mol)	RMSD (Å)	Energias de ligação (kcal/mol)
				Cinamaldeído
ATP sintase (6OQW)	Proteína de membrana	-7,14	1,10	-5,10
FtsZ (5MNS5)	Hidrolase	-10,57	0,51	-5,20

sendo uma molécula pequena apresenta potencial para interferir com a síntese de ATP bacteriana, podendo resultar em alterações na conformação da proteína, o que causa a inibição da atividade da ATPase, a inibição de outras enzimas e o crescimento bacteriano alterado [30]. Interessantemente, alguns estudos realizados com *Cronobacter sakazakii*, *E. coli* e *Listeria monocytogenes* o cinamaldeído tanto em baixas quanto em altas concentrações foi capaz de causar uma ruptura da força motriz dos prótons com rápida depleção de ATP e impediu um aumento na concentração de ATP celular, o que sugere que a inibição da ATPase pode desempenhar um papel significativo na redução da taxa de crescimento e morte microbiana [9, 31, 32].

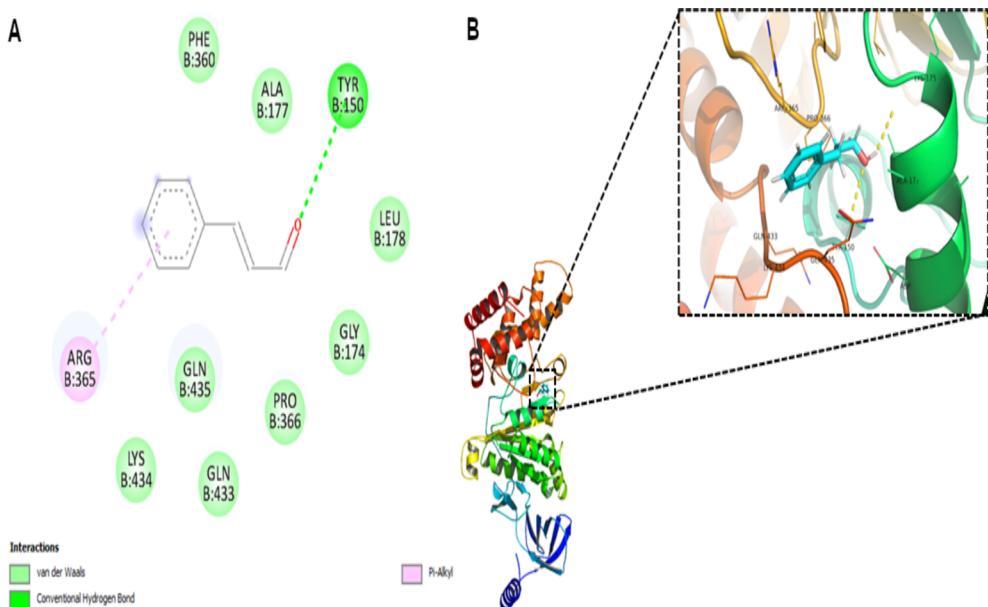


Figura 3. Análise de docking molecular. **A:** Interações bidimensionais. **B:** representação tridimensional das interações do cinamaldeído na subunidade B da ATP sintase. Pontilhado amarelo: interações de ligações de hidrogênio.

A divisão celular bacteriana é regulada pela proteína FtsZ, um homólogo procariótico da tubulina de mamíferos. A polimerização dependente de guanosina trifosfato (GTP) que transforma a FtsZ em filamentos, uma estrutura polimérica altamente dinâmica conhecida como anel Z, que é montada no meio da célula e contrai o envelope celular, separando finalmente a célula mãe em duas células filhas [33]. Dessa forma, observa-se que esse processo é importante para o crescimento bacteriano *in vitro* e *in vivo* e que a proteína FtsZ pode ser um importante alvo para o desenvolvimento de fármacos com potencial ação antibacteriana.

Portanto, o docking molecular realizado com a proteína FtsZ e o cinamaldeído mostrou que esse composto foi capaz de ligar-se com energia de $\Delta E = -5,20$ kcal/mol e formar ligações Pi-Alkyl com a ALA-186, carbono-hidrogênio com a MET-105 e pontes de hidrogênio com a ARG-143 e a GLY-107, além de várias interações de van der Waals (Figura 4 A e B). Sendo assim, de maneira preditiva parece que o cinamaldeído é capaz de inibir a polimerização de FtsZ dependente de GTP, diminuir a reação de montagem *in vitro* e o agrupamento de FtsZ, perturbar a morfologia do anel Z *in vivo* e reduzir a frequência de formação do anel Z por unidade de comprimento celular, sobretudo em bactérias Gram negativas como *E. coli*, *K. pneumoniae*, *B. cereus* entre outras [30, 34].

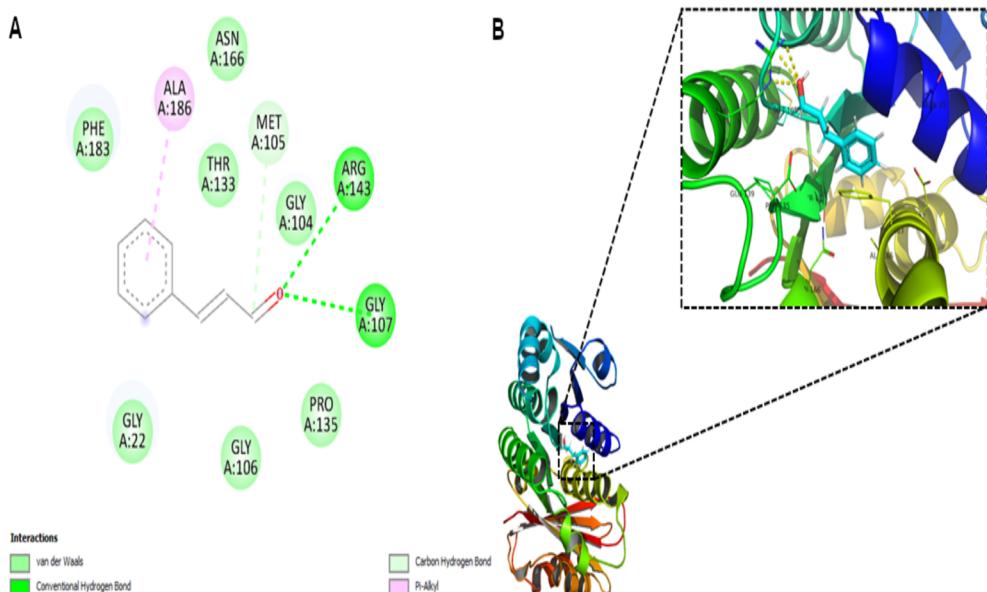


Figura 4. Análise de docking molecular. **A:** Interações bidimensionais. **B:** Representação tridimensional das interações do cinamaldeído no sítio ativo FtsZ. Pontilhado amarelo: interações de ligações de hidrogênio.

Portanto, a FtsZ parece ser um alvo promissor para novas drogas antibacterianas devido à sua especificidade procariótica, sua distância evolutiva da tubulina eucariótica e grande importância na divisão celular bacteriana [35].

CONCLUSÃO

A partir dos resultados expostos, pode-se constatar que o cinamaldeído apresenta atividade antibacteriana de caráter bactericida contra bactérias Gram +/−, *S. aureus* e *K. pneumoniae*. Além disso, de maneira preeditiva observa-se que o cinamaldeído foi capaz de ligar-se a subunidade B da ATP sintase bacteriana, bem como a FtsZ com energias de ligação semelhantes. No entanto, ainda são necessárias mais pesquisas para obter um melhor entendimento do mecanismo de ação desse composto. Ainda assim, preparações farmacêuticas de cinamaldeído pode vir a ser benéfica para a saúde humana e considerado como agente alternativo para terapia antimicrobiana, aplicações médicas e suplemento antibacteriano em produtos de saúde. Ademais, pode vir a reduzir os custos dos medicamentos, pois o cinamaldeído não apresenta toxicidade aguda ou crônica, mutagenicidade, genotoxicidade e carcinogenicidade em estudos com mamíferos.

CONFLITOS DE INTERESSE

Os autores declaram que não há conflito de interesses.

REFERÊNCIAS

1. S.Y.C Tong, J.S. Davis, E. Eichenberger, *et al.*, *Staphylococcus aureus* infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management, *Clinical Microbiology Reviews*, **28**(3), 603-661 (2015).
2. D.R. Giacobbe, D. Battaglini, E. M. Enrile, *et al.*, Incidence and prognosis of ventilator-associated pneumonia in critically ill patients with COVID-19: a multicenter study, *Journal of Clinical Medicine*, **10**, 555 (2021).
3. G. Wang, G. Zhao, X. Chao, *et al.*, The characteristic of virulence, biofilm and antibiotic resistance of *Klebsiella pneumoniae*, *International Journal of Environmental Research and Public Health*, **17**, 6278 (2020).
4. J. O'Neill, *Antimicrobial Resistance: Tackling a crisis for the health and wealth of nations*, 2014, 20 p. URL: <https://wellcomecollection.org/works/rdpck35v/items>

5. A.H. Holmes, L.S.P. Moore, A. Sundsfjord, *et al.*, Understanding the mechanisms and drives of antimicrobial resistance, *The Lancet*, **387**, 176-187 (2016).
6. C. Lepore, L. Silver, U. Theuretzbacher, *et al.*, The small-molecule antibiotics pipeline, *Nature Reviews Drug Discovery*, **18**, 739-740 (2019).
7. P. Tongnuanchan, S. Benjakul, Essential oils: Extraction, bioactivities, and their uses for food preservation, *Journal of the Food Science*, **79**, 1231-1249 (2014).
8. W. Dhifi, S. Bellili, S. Jazi, *et al.*, Essential oils chemical characterization and investigation of some biological activities: A critical review, *Medicines (Basel)*, **3**(4), 25 (2016).
9. A.O. Gill, R.A. Holley, Mechanisms of bactericidal action of cinnamaldehyde against *Listeria monocytogenes* and of eugenol against *L. monocytogenes* and *Lactobacillus sakei*, *Applied and Environmental Microbiology*, **70**, 5750-5755 (2004).
10. P. Domadia, S. Swarup, A. Bhunia, *et al.*, Inhibition of bacterial cell division protein FtsZ by cinnamaldehyde, *Biochemical Pharmacology*, **75**, 831-840 (2007).
11. J.R. Hood, J.M. Wilkinson, H.M.A. Cavanagh, Evaluation of common antibacterial screening methods utilized in essential oil research, *Journal of Essential Oil Research*, **15**, 428-433 (2003).
12. P.F.C. Nascimento, A.C. Nascimento, C.S. Rodrigues, *et al.*, Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos, *Revista Brasileira de Farmacognosia*, **17**, 108-113 (2007).
13. CLSI, Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Aproved Standard – Ninth Edition, CLSI document M07-A9, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne (PA), 2012.
14. F. Hadacke, H. Greger, Testing of antifungal natural products: methodologies, comparability of results and assay choice, *Phytochemical Analysis*, **11**, 137-147 (2000).
15. G. Morales, A. Paredes, P. Sierra, L. Loyola, Antimicrobial activity of three baccharis species used in the traditional medicine of Northern Chile, *Molecules*, **13**, 790-794 (2008).
16. E.A. Ostrosky, M.K. Mizumoto, M.E.L. Lima, *et al.*, Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da Concentração Mínima Inibitória

- (CMI) de plantas medicinais, *Revista Brasileira de Farmacognosia*, **18**, 301-307 (2008).
17. A.R. Allouche, Gabedit—A graphical user interface for computational chemistry softwares, *Journal of Computational Chemistry*, **32**, 174-182 (2011).
 18. Y. Westermaier, X. Barril, L. Scapozza, Virtual screening: An *in silico* tool for interlacing the chemical universe with the proteome, *Methods*, **71**, 44-57 (2015).
 19. M.E. Levison, Pharmacodynamics of antimicrobial drugs, *Infectious Diseases Clinics of North America*, **65**, 451-465 (2004).
 20. B.T. Thomas, A.J. Adeleke, R.R. Raheem-Ademola, *et al.*, Efficiency of some disinfectants on bacterial wound pathogens, *Life Science Journal*, **9**, 752-755 (2012).
 21. T.A. Ferro, J.M. Araújo, B.L. dos Santos Pinto, *et al.*, Cinnamaldehyde inhibits *Staphylococcus aureus* virulence factors and protects against infection in a *Galleria Mellonella* Model, *Frontiers in Microbiology*, **11**, 628074 (2021).
 22. S. Wang, O.H. Kang, D.Y. Know, Trans-cinnamaldehyde exhibits synergy with conventional antibiotic against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *International Journal of Molecular Sciences*, **22**, 2752 (2021).
 23. M.S. Hossan, H. Jindal, S. Maisha, *et al.*, Antibacterial effects of 18 medicinal plants used by the Khyang tribe in Bangladesh, *Pharmaceutical Biology*, **56**, 201-208 (2018).
 24. M. Elgayyar, F.A. Draughon, D.A. Golden, J.R. Mount, Antimicrobial activity of essential oils from plants against selected pathogenic and saprophytic microorganisms, *Journal of food Protection*, **64**, 1019-1024 (2001).
 25. Y. Taguchi, Y. Hasumi, S. Abe, Y. Nishiyama, Effect of cinnamaldehyde on hyphal growth and the morphology of *Candida albicans*, *Medical Molecular Morphology*, **46**, 8-13 (2013).
 26. M. Albano, F.C.B. Andrade, B.F.M.T. Barbosa, *et al.*, Antibacterial and anti-*Staphylococcal* enterotoxin activities of phenolic compounds, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, **38**, 83-90 (2016).
 27. F. Stanzione, I. Giangreco, J.C. Cole, Use of molecular docking computational tools in drug discovery, *Progress in Medicinal Chemistry*, **60**, 273-343 (2021).

28. M. Sobti, J.L. Walshe, D. Wu, *et al.*, Cryo-EM structures provide insight into how *E. coli* F₁F_o ATP synthase accommodates symmetry mismatch, *Nature Communications*, **11**, 2615 (2020).
29. J.M. Wagstaff, M. Tsim, M.A. Olivia, *et al.*, A polymerization-associated structural switch in FtsZ that enables treadmilling of model filaments, *mBio*, **8**(3), e00254-17 (2017).
30. F. Nazzaro, F. Fratianni, L. de Martino, *et al.*, Effect of essential oils on pathogenic bacteria, *Pharmaceuticals*, **6**, 1451-1474 (2013).
31. M.A.R. Amalaradjou, K. Venkitanarayanan, Effect of *trans*-cinnamaldehyde on inhibition and inactivation of *Cronobacter sakazakii* biofilm on abiotic surfaces, *Journal of Food Protection*, **74**, 200-208 (2011).
32. A.O. Gill, R.A. Holley, Inhibition of membrane bound ATPases of *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* by plant oil aromatics, *International Journal of Food Microbiology*, **111**, 170-174 (2006).
33. D.P. Haeusser, W. Margolin, Splitsville: Structural and functional insights into the dynamic bacterial Z ring, *Nature Reviews Microbiology*, **14**, 305-319 (2016).
34. P. Domadia, S. Swarup, A. Bhunia, *et al.*, Inhibition of bacterial cell division protein FtsZ by cinnamaldehyde, *Biochemical Pharmacology*, **74**, 831-840 (2007).
35. W. Vollmer, The prokaryotic cytoskeleton: A putative target for inhibitors and antibiotics? *Applied Microbiology and Biotechnology*, **73**, 37-47 (2006).

COMO CITAR ESTE ARTIGO

E.L. Andrade de Oliveira, G. da Silva-Rodrigues, A.A. de Oliveira Filho, C.I. Soares-Medeiros, Atividade anti-*Staphylococcus aureus* e anti-*Klebsiella pneumoniae* do cinaldeído e suas interações com ATP sintase e FtsZ através do docking molecular, *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.*, **52**(1), 499-513 (2023). <https://doi.org/10.15446/rccif.52n1.103753>